

PENENTUAN KADAR FENOL TOTAL DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI n-BUTANOL DAUN PULUTAN (*Urena lobata*)

Sadoon Zulfikarridho Berliansyah¹, Ariani Ratri Dewi¹, Yudi Purnomo^{1*}

¹Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang (UNISMA)

ABSTRAK

Pendahuluan : Antioksidan berperan menghambat kerusakan oksidatif akibat radikal bebas dan banyak dijumpai pada herbal. Daun pulutan (*Urena lobata*) adalah salah satu herbal yang menunjukkan aktivitas antioksidan terkait kandungan senyawa aktifnya. Fraksi n-butanol daun *U. lobata* memiliki zat aktif yang diprediksi memiliki aktivitas antioksidan tetapi masih sedikit hasil studi yang dilaporkan. Penelitian bertujuan untuk mengetahui kadar fenol total fraksi n-butanol daun *U. lobata* dan aktivitas antioksidannya.

Metode : Fraksi n-butanol daun *U. lobata* diperoleh melalui fraksinasi cair-cair ekstrak metanol menggunakan pelarut n-butanol. Fraksi n-butanol dilakukan skrining fitokimia kemudian dilanjutkan pengujian kadar fenol total dengan metode *Folin-Ciocalteu*. Selanjutnya dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH kemudian ditentukan nilai IC₅₀-nya.

Hasil : Fraksi n-butanol daun *U. lobata* mengandung senyawa flavonoid, fenol, dan saponin. Kadar fenol total dari fraksi n-butanol daun *U. lobata* diperoleh sebesar 286,54 mg GAE/g. Fraksi n-butanol daun *U. lobata* memiliki aktivitas antioksidan kategori kuat (IC₅₀=68,61 µg/mL) tetapi lebih lemah 1000x dibandingkan vitamin A (IC₅₀=0,05 µg/mL).

Simpulan : Fraksi n-butanol daun pulutan (*Urena lobata*) memiliki aktivitas antioksidan kategori kuat dengan kadar fenol total 286,54 mg GAE/g.

Kata Kunci : pulutan; antioksidan; total fenol; DPPH.

* Korespondensi :

Yudi Purnomo

MT. Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65144

e-mail : y_purnomo92@yahoo.com, telepon: (0341) 558959

DETERMINATION OF TOTAL PHENOL LEVELS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF THE n-BUTANOL FRACTION OF PULUTAN LEAVES (*Urena lobata*)

Sadoon Zulfikarridho Berliansyah¹, Ariani Ratri Dewi¹, Yudi Purnomo^{1*}

¹Faculty of Medicine, University of Islam Malang (UNISMA)

ABSTRACT

Introduction: Antioxidants play a role in inhibiting oxidative damage due to free radicals and are found in many herbs. Pulutan leaf (*Urena lobata*) is one of the herbs that show antioxidant activity related to its active compound content. The fraction of n-butanol of *U. lobata* leaves has an active substance that is predicted to have antioxidant activity but still few studies have been reported. This study was aimed to find out the total phenolic levels of the n-butanol fraction of *U. lobata* leaves and their antioxidant activity.

Method: The fraction of n-butanol of the leaf *U. lobata* is obtained through the fractionation of the liquids of methanol extract using the solvent n-butanol. The n-butanol fraction is performed physicochemical screening and then continued testing of total phenol levels with the *Folin-Ciocalteu* method. Furthermore, an antioxidant activity test is carried out with the DPPH method and then determined the IC₅₀ value.

Result: The n-butanol fraction of *U. lobata* leaves contains flavonoid compounds, phenols, and saponins. The total phenol level of the n-butanol fraction of *U. lobata* leaves was obtained at 286.54 mg GAE/g. The n-butanol fraction of *U. lobata* leaves had antioxidant activity categorized as strong (IC₅₀ = 68,61 µg/mL) but was 1000 times weaker than vitamin A (IC₅₀ = 0,05 µg/mL).

Conclusion: The fraction n-butanol of pulutan leaves (*Urena lobata*) has strong category antioxidant activity with a total phenol level of 286.54 mg GAE/g.

Keyword: pulutan; antioxidants; total phenolic; DPPH.

*Corresponding author:

Yudi Purnomo

MT. Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65144

e-mail : y_purnomo92@yahoo.com, phone: (0341) 558959

PENDAHULUAN

Senyawa radikal bebas berkontribusi terhadap kerusakan oksidatif pada penyakit degeneratif. Radikal bebas adalah molekul yang kekurangan satu elektron dari pasangan elektron bebasnya sehingga bersifat tidak stabil¹. Radikal bebas dapat berasal dari sumber eksogen seperti sinar X, asap kendaraan, bahan tambahan pangan, dan obat-obatan. Sumber endogen radikal bebas antara lain adalah hasil dari metabolisme sel, proses peradangan, dan kekurangan nutrisi². Peningkatan jumlah radikal bebas tanpa diimbangi antioksidan yang memadai akan menimbulkan kerusakan oksidatif pada komponen sel seperti DNA, protein, dan lipid yang berperan pada patogenesis penyakit degeneratif^{1,2}.

Antioksidan berperan menghambat kerusakan oksidatif akibat radikal bebas dengan cara memberi elektron pada senyawa radikal bebas sehingga dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas³. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat memungut (*scavenger*) atau menetralkan radikal bebas sehingga dapat mencegah kerusakan oksidatif⁴. Antioksidan dikelompokkan berdasarkan sumbernya menjadi eksogen dan endogen. Contoh antioksidan endogen adalah enzim Katalase (CAT), Glutathione Peroxidase (GPx), dan Superoksida Dismutase (SOD). Contoh antioksidan eksogen dibagi menjadi dua yaitu sintesis dan alami, contoh antioksidan sintesis seperti Tert-Butil Hidroksi Quinon (TBHQ), Butil Hidroksi Toluen (BHT), dan Butil Hidroksi Anisol (BHA)⁴. Sedangkan antioksidan alami didapatkan dari kelompok tanaman seperti sayuran, buah-buahan, dan rempah-rempah. Salah satu senyawa aktif yang dijumpai di herbal dan memiliki aktivitas antioksidan adalah senyawa fenolik. Fenol merupakan kelompok senyawa terbesar pada tanaman yang berperan sebagai antioksidan alami⁵. Kandungan antioksidan alami tersebut antara lain dapat ditemukan pada ekstrak daun pulutan⁶.

Pulutan (*Urena lobata*) adalah salah satu herbal yang memiliki khasiat untuk pengobatan. Pada uji praklinik, daun pulutan (*Urena lobata*) memiliki potensi sebagai antioksidan, antiradang, dan antikolinergik yang dikendalikan oleh senyawa flavonoid^{7,8}. Flavonoid merupakan metabolit sekunder yang memiliki gugus polifenol pada strukturnya. Flavonoid sendiri merupakan kelompok terbesar dari senyawa fenolik⁹. Senyawa fenol merupakan senyawa yang memiliki gugus hidroksi yang umumnya juga berpotensi memiliki aktivitas antioksidan¹⁰. Aktivitas antioksidan sendiri memiliki hubungan yang berbanding lurus dengan kandungan total fenol pada suatu bahan alam¹⁰. Sebagian besar uji bioaktivitas daun pulutan menggunakan bentuk ekstrak kasar, sedangkan bentuk fraksi belum banyak dilaporkan. Fraksi merupakan hasil fraksinasi cair-cair dengan pelarut organik untuk memisahkan senyawa berdasarkan kepolarannya¹¹. Penggunaan n-butanol untuk fraksinasi diharapkan dapat menarik senyawa aktif

yang diduga memiliki aktivitas antioksidan seperti alkaloid, flavonoid, dan fenol. Berdasarkan latar belakang tersebut maka perlu dilakukan analisis kadar fenol total dan aktivitas antioksidan pada fraksi n-butanol daun pulutan (*Urena lobata*).

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini termasuk dalam penelitian eksperimental laboratorium. Sampel yang digunakan yaitu fraksi n-butanol daun pulutan (*Urena lobata*) dan diuji aktivitas antioksidan serta kandungan fenol total. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biokimia Universitas Islam Malang (UNISMA) dan Balai Materia Medika Batu. Penelitian mulai dilaksanakan pada bulan Maret hingga bulan Mei 2021.

Prosedur Penelitian

Pembuatan Fraksi Daun Pulutan

Simplisia daun pulutan (*Urena lobata*) diekstraksi menggunakan pelarut metanol dengan metode maserasi. Ekstrak kental daun pulutan (*Urena lobata*) yang diperoleh setelah evaporasi difraksinasi dengan pelarut n-butanol secara bertingkat yang sebelumnya dilakukan fraksinasi bertingkat dengan pelarut n-heksan dan etil asetat. Setelah dilakukan fraksinasi dengan pelarut n-heksan dan etil asetat maka dilanjutkan fraksinasi dengan n-butanol. Fraksinasi dilakukan secara bertahap dengan pengulangan beberapa kali dan dihentikan bila warna pelarut menjadi lebih terang atau memudar. Hasil fraksinasi dikumpulkan lalu diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 90°C hingga diperoleh fraksi n-butanol daun pulutan (*Urena lobata*) dalam bentuk pasta.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia fraksi n-butanol daun pulutan (*Urena lobata*) dilakukan untuk menentukan kandungan senyawa steroid, flavonoid, alkaloid, triterpenoid, fenolat, dan saponin menggunakan reagen berdasarkan metode Harborne (1987)^{12,18}. Pada proses skrining fitokimia pengamatan perubahan warna dilakukan oleh dua orang yang bertujuan untuk mengurangi bias atau kesalahan hasil penelitian.

Uji Kadar Fenol Total

Pengujian kadar fenol total dilakukan dengan metode *Folin-Ciocalteu* yang sedikit dimodifikasi¹³. Fraksi daun pulutan (*Urena lobata*) 10 mg dilarutkan dalam 10 mL pelarut etanol. Larutan lalu ditambahkan 5 mL aquadest dan 0,75 mL reagen *Folin-Ciocalteu*. Selanjutnya didiamkan 5 menit dan ditambahkan 0,75 mL Na₂CO₃ 7% kemudian larutan dihomogenkan menggunakan vorteks dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu 45°C di tempat yang terhindar dari sinar matahari. Serapan larutan sampel diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 735 nm¹⁴. Asam galat digunakan sebagai senyawa

pembandingan dengan rentang konsentrasi 10 - 50 µg/mL untuk pembuatan seri kurva baku¹⁵. Senyawa fenol akan mereduksi fosfomolibdat fosfotungstat dalam *Folin-Ciocalteu* membentuk molibdenum berwarna biru^{10,13}.

Kandungan senyawa fenol dalam sampel dihitung berdasarkan kurva standar asam galat dan dinyatakan dalam satuan mg ekuivalen asam galat/g fraksi (mg GAE/g fraksi) dengan rumus perhitungan:

$$C = \frac{a \cdot V / 1000}{G}$$

Keterangan:

- C = Total fenol
a = Konsentrasi asam galat (mg/L)
V = Volume larutan uji (mL)
G = Massa fraksi (g)

Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan ini mengacu pada riset Molyneux (2004) dengan sedikit modifikasi¹⁶. Larutan uji dibuat sebanyak 1 mL fraksi dengan konsentrasi 1, 10, dan 100 µg/mL. Larutan uji ditambahkan dengan 2mL larutan 1,1-difenil-2 pikrilhidrazil (DPPH). Setelah itu campuran dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit ditempat gelap kemudian absorbansi diukur

pada panjang gelombang 517 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Perhitungan yang digunakan untuk penentuan aktivitas antioksidan dinyatakan dengan nilai IC₅₀ (*Inhibitory Concentration of 50%*). Perhitungan IC₅₀ dilakukan dengan penentuan persamaan regresi yang dibuat dari larutan uji pada beberapa konsentrasi dengan persamaan :

$$y = bx + a$$

Aktivitas penangkal radikal bebas dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = 1 - \frac{As}{Ac} \times 100\%$$

Keterangan :

- Ac = Absorbansi kontrol
As = Absorbansi sampel

HASIL PENELITIAN

Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia fraksi n-butanol daun pulutan (*Urena lobata*) dapat dilihat pada **Tabel 1** dan menunjukkan bahwa dalam fraksi n-butanol daun pulutan (*Urena lobata*) positif mengandung flavonoid, fenol, dan saponin.

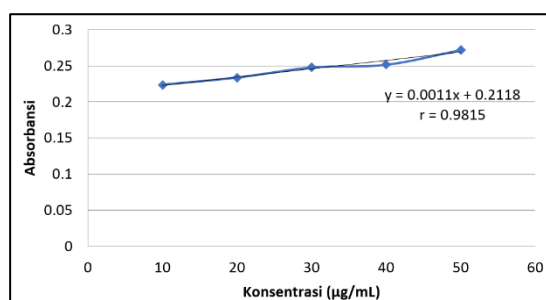
Tabel 1. Hasil skrining fitokimia fraksi n-butanol daun pulutan (*Urena lobata*)

Golongan senyawa	Metode (Pereaksi)	Perubahan warna	Hasil uji	Pengamat	
				I	II
Flavonoid	NaOH	Warna menjadi kekuningan	+	+	+
Fenol	FeCl ₃	Warna menjadi biru tua	+	+	+
Alkaloid	Mayer	Tidak terbentuk endapan	-	-	-
Steroid	Liebermen-Burchard	Tidak terjadi perubahan warna	-	-	-
Triterpenoid	Liebermen-Burchard	Tidak terjadi perubahan warna	-	-	-
Saponin	Akuades, dipanaskan, kocok, +HCl	Timbul buih putih stabil	+	+	+

Keterangan: (+) ada senyawa metabolit sekunder; (-) tak ada senyawa metabolit sekunder

Uji Kadar Fenol Total

Pengukuran kadar fenol total diawali dengan perhitungan persamaan regresi dari asam galat, dapat dilihat pada **Gambar 1**



Gambar 1. Kurva Kalibrasi Asam Galat

Pada **Gambar 1** merupakan kurva kalibrasi dan persamaan regresi dari asam galat. Hasil penentuan kadar fenol total fraksi n-butanol daun pulutan (*Urena lobata*) dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Kadar Total Fenol Fraksi n-Butanol Daun Pulutan (*Urena lobata*)

Replikasi	Abs.	Kadar Fenol Total (mg GAE/g)	Rata-rata Kadar Fenol Total ($\bar{x} \pm SD$)
1	0.5279	287,36	286,54 \pm 0,82*
2	0.5261	285,72	
3	0.5270	286,54	

*Perhitungan dengan ekstrapolasi

Berdasarkan hasil perhitungan kadar fenol total pada fraksi n-butanol daun pulutan (*Urena lobata*) diperoleh sebesar 286,54 mg GAE/g.

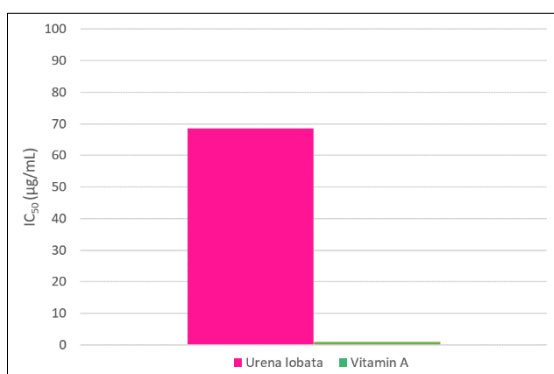
Uji Aktivitas Antioksidan

Nilai persen inhibisi dan IC_{50} fraksi n-butanol daun pulutan (*Urena lobata*) dan vitamin A dapat dilihat pada **Tabel 3** dan **Gambar 2** berikut :

Tabel 3. Rerata persen inhibisi nilai IC_{50} sampel

Sampel	C ($\mu\text{g/mL}$)	n	% inhibisi ($\bar{x} \pm SD$)	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Kategori
<i>Urena lobata</i>	1	3	2,92 \pm 0,96	68,61	Kuat
	10	3	21,78 \pm 3,03		
	100	3	68,25 \pm 4,11		
Vitamin	0	3	0,00 \pm 0,00	0,05	Sangat Kuat
A*	0,01	3	46,72 \pm 0,36		
	0,1	3	72,63 \pm 0,36		

Keterangan: (*) Pembandingan; C: kadar; n: jumlah pengulangan; IC_{50} : Inhibitory Concentration of 50%; SD: Standar Deviasi



Gambar 2. Histogram nilai IC_{50} fraksi n-butanol daun pulutan (*Urena lobata*) dengan vitamin A

PEMBAHASAN

Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa fraksi n-butanol daun *U. lobata* mengandung senyawa flavonoid, fenol, dan saponin. Hasil ini sesuai dengan penelitian Hardiana (2012) bahwa pada fraksi daun *Urena lobata* memiliki kandungan alkaloid, flavonoid, dan polifenol²⁶. Senyawa-senyawa tersebut merupakan metabolit sekunder yang memiliki efek salah satunya sebagai antioksidan. Skrining fitokimia bertujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dan makromolekuler serta untuk penggolongan tumbuhan berdasarkan sifat kimia dari fitotoksin (senyawa yang bersifat bagi tanaman) dan fitoaleksin (antimikroba yang dihasilkan tanaman)³⁰. Skrining fitokimia merupakan analisis kualitatif senyawa fitokimia yang berada pada bagian-bagian tanaman³¹.

Pelarut n-butanol merupakan pelarut amfipatik yang memiliki gugus *hydrophilic* dan gugus *hydrophobic*³². Pemilihan pelarut dilakukan berdasarkan kepolaran yang dimiliki pelarut agar dapat menarik metabolit sekunder yang diinginkan⁹. Senyawa golongan fenol atau flavonoid bersifat polar dan semipolar²⁶. N-butanol merupakan pelarut jenis semi polar sehingga dapat menarik metabolit sekunder seperti fenol dan flavonoid secara maksimal³³. Kriteria kepolaran pelarut dilihat dari nilai konstanta dielektrik (KD). Semakin besar nilai KD maka senyawa tersebut semakin polar. Berikut adalah nilai KD dari beberapa pelarut seperti n-heksan, etil asetat, n-butanol, dan air berturut-turut adalah 2, 6, 18, dan 80³⁴.

Saponin termasuk senyawa glikosida yang banyak ditemui dalam tanaman dan memiliki masa molekul besar terdiri dari aglikon steroid atau triterpen³⁵. Pada saponin steroid banyak ditemui pada tumbuhan monokotil dan untuk saponin triterpen pada tumbuhan dikotil³⁵. Saponin bersifat polar dan memiliki manfaat terhadap tubuh yaitu dapat sebagai antioksidan, anti-inflamasi, analgesik, anti-jamur, dan sitotoksik^{35,36}.

Senyawa fenol merupakan senyawa yang berasal dari tumbuhan dan memiliki ciri struktur yang khas yaitu cincin aromatik dengan satu atau dua gugus hidroksil¹⁷. Fenol cenderung mudah larut dalam air yang bersifat polar¹⁸. Beberapa senyawa fenol memiliki beberapa manfaat seperti lignin sebagai pembentuk dinding sel dan antosianin sebagai pigmen²¹. Senyawa fenol mempunyai aktivitas antioksidan, antitumor, antiviral, dan antibiotik. Fenol dapat dibagi berdasarkan strukturnya menjadi dua kelompok yaitu fenol sederhana seperti resorsinol, hidroquinon, dan katekol, serta fenol kompleks (polifenol) seperti lignin, melanin, flavonoid, dan tanin^{18,19}.

Berdasarkan penelitian Purnomo, *et. al.* (2015) bahwa dalam ekstrak etanol daun pulutan (*Urena lobata*) mengandung Stigmasterol, β -Sitosterol, Mangiferin, Gossypetin, serta Chrysoeriol dan yang termasuk kategori flavonoid yaitu Mangiferin dan Gossypetin³⁷. Senyawa

flavonoid dalam tanaman juga berfungsi sebagai antioksidan³⁸. Flavonoid merupakan golongan terbesar dari kelompok senyawa fenolik yang sering dijumpai pada berbagai macam tumbuhan dalam bentuk glikosida atau unit flavonoid yang terikat pada suatu gula²⁰. Flavonoid disintesis oleh asam amino aromatik melalui jalur biosintesis asam sikimat²¹. Flavonoid berpotensi sebagai antioksidan karena memiliki gugus hidroksil (-OH) yang dapat menetralkan radikal bebas menjadi senyawa non-radikal yang stabil²². Flavonoid memiliki komponen polifenol yang potensial melawan stres oksidatif. Flavonoid adalah agen pembersih radikal peroksil yang bekerja mereduksi radikal *alkyl peroxy* dan menghambat peroksidasi lipid²³. Hal ini menunjukkan kandungan metabolit sekunder flavonoid dan fenol yang berada dalam fraksi n-butanol daun *U. lobata* memiliki potensi sebagai antioksidan.

Pada penelitian ini hanya ditemukan kelompok besar metabolit sekunder seperti flavonoid, fenol, dan saponin, sedangkan komponen aktif tunggal (*single compound*) belum teridentifikasi. Untuk identifikasi komponen tunggalnya diperlukan metode analisis instrumen dengan teknik kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) seperti yang direkomendasikan oleh *European Pharmacopoeia*²⁴. *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC), keunggulan HPLC sendiri yaitu lebih efisien, lebih cepat, dan biaya analisis yang tidak terlalu tinggi²⁴.

Uji Kadar Fenol Total

Kadar fenol total pada fraksi n-butanol daun pulutan (*Urena lobata*) adalah 286,54 mg GAE/g, yang artinya dalam setiap gram fraksi n-butanol daun *U. lobata* mengandung asam galat sebesar 286,54 mg. Kadar fenol total fraksi n-butanol daun *U. lobata* lebih tinggi dibandingkan bentuk ekstraknya (26,69 mg GAE/g)³⁹. Untuk mengetahui kadar total fenolik pada fraksi n-butanol daun *U. lobata* menggunakan metode *Folin-Ciocalteu* dan asam galat digunakan sebagai pembanding. Asam galat salah satu turunan dari asam hidroksibenzoat atau termasuk golongan asam fenolik sederhana dan juga karena sifatnya yang stabil dan murni²⁵. Struktur senyawa fenol memiliki hubungan dengan aktivitas antioksidan yang ditentukan dengan adanya gugus hidroksil seperti pada asam galat⁴⁰. Nilai total fenol dinyatakan dalam *Gallic Acid Equivalents* (GAE) per 1 g berat sampel. Kekurangan uji kadar fenol total yang dilakukan pada penelitian ini adalah rentang kurva baku dibawah dari kadar sampel dengan absorbansinya sebesar 0,5261 sehingga dalam perhitungan kadarnya perlu dilakukan ekstrapolasi. Untuk mendapatkan hasil yang lebih baik perlu dilakukan pembuatan seri kurva baku yang rentangnya lebih lebar.

Uji Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan fraksi n-butanol daun pulutan (*Urena lobata*) memiliki nilai IC₅₀ dalam kategori kuat (IC₅₀ = 68,61 µg/mL). Berdasarkan

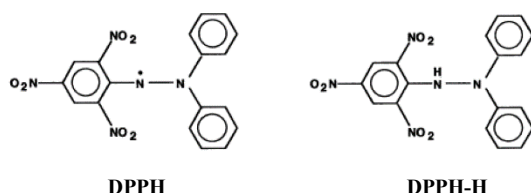
nilai *Inhibitor Concentration of 50* (IC₅₀) dari penelitian yang telah dilakukan potensi antioksidan pada fraksi n-butanol daun *U. lobata* termasuk dalam kategori kuat karena nilai IC₅₀ yang lebih rendah dari 100 µg/mL¹⁶. Kandungan fenol, flavonoid, dan saponin yang ditemukan pada fraksi n-butanol daun *U. lobata* diprediksi memiliki aktivitas antioksidan. Senyawa flavonoid bertindak sebagai pembersih radikal peroksil dengan cara mereduksi radikal *alkyl peroxy* secara potensial yang pada prinsipnya akan menghambat peroksidasi lipid²⁸. Sedangkan senyawa fenol merupakan senyawa yang memiliki gugus hidroksi dan juga berpotensi memiliki aktivitas antioksidan¹⁰. Seperti penjelasan pada skrining fitokimia penggunaan n-butanol yang bersifat semi polar sehingga dapat menarik fenol dan flavonoid secara optimal. Fraksi n-butanol daun *U. lobata* memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan fraksi n-heksan daun *U. lobata* (IC₅₀ = 173,43 µg/mL)⁴¹. Hal ini karena fraksi n-heksan menarik senyawa nonpolar yang memiliki aktivitas antioksidan yang lemah.

Fraksi n-butanol daun pulutan (*Urena lobata*) aktivitas antioksidannya lebih rendah dibandingkan vitamin A (IC₅₀ = 0,05 µg/mL) sebagai pembanding. Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Aprilia dan Hari (2017) menunjukkan IC₅₀ vitamin A termasuk kategori sangat kuat (IC₅₀ = 2,15 µg/mL) dan hasil tersebut tidak berbeda jauh dengan hasil penelitian ini. Hal ini dikarenakan kadar zat aktif dalam fraksi yang diduga rendah maka berkorelasi dengan aktivitas antioksidannya. Fraksi n-butanol daun *U. lobata* mengandung banyak senyawa aktif sehingga meningkatkan risiko interaksi yang bersifat antagonis sehingga menurunkan aktivitas antioksidannya. Sedangkan vitamin A merupakan *single compound* atau merupakan komponen yang murni.

Vitamin A merupakan vitamin yang larut lemak dan bersifat nonpolar. Vitamin A digunakan sebagai pembanding dikarenakan vitamin A merupakan antioksidan yang mampu menangkap oksigen singlet dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas. Selain itu vitamin A juga tergolong antioksidan yang larut lemak dan mampu menghambat terjadinya peroksidasi lipid²⁸, mekanisme yang sama seperti senyawa fenol pada fraksi n-butanol daun *U. lobata*.

DPPH merupakan salah satu metode yang digunakan untuk uji aktivitas antioksidan. Metode DPPH memiliki keunggulan antara lain sederhana, cepat, mudah, hanya membutuhkan sampel yang sedikit, dan senyawa radikal bebas DPPH yang digunakan bersifat stabil dari metode yang lain²⁹. Kekurangan pada metode ini yaitu dilakukan dalam ruangan yang gelap (minim cahaya)⁴². Hal yang diamati pada metode ini yaitu perubahan warna dari sampel uji yang berwarna ungu pekat ketika ditambahkan DPPH akan berubah warna menjadi kekuningan jika sampel uji memiliki aktivitas peredaman¹⁶.

Aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan nilai aktivitas penghambatan terhadap radikal bebas yang akan diinterpretasikan kedalam nilai IC₅₀. IC₅₀ ini dapat menunjukkan konsentrasi substrat yang mampu meredam 50% aktivitas radikal bebas DPPH. Nilai IC₅₀ menurut Molyneux (2004) berbanding terbalik dengan aktivitas antioksidan, semakin tinggi aktivitas antioksidannya, maka nilai IC₅₀ nya semakin rendah¹⁶. Nilai IC₅₀ pada fraksi n-butanol daun *U. lobata* yang termasuk kategori kuat dan menurut Tomayahu *et. al.* (2013) senyawa aktif umumnya bersifat toksik pada dosis tinggi, maka perlu dilakukan uji toksisitas untuk melihat keamanannya⁴³.



Gambar 3. Reaksi antara antioksidan dan DPPH menjadi DPPH-H (Molyneux, 2004)

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Hasil skrining fitokimia fraksi n-butanol daun pulutan (*Urena lobata*) mengandung fenol, flavonoid, dan saponin.
2. Total fenol pada berbagai konsentrasi fraksi n-butanol daun *U. lobata* diperoleh kadar fenol total sebesar 286,54 mg GAE/g yang berarti setiap gram fraksi n-butanol daun *U. lobata* mengandung asam galat sebesar 286,54 mg.
3. Fraksi n-butanol daun *U. lobata* memiliki aktivitas antioksidan dalam kategori kuat (IC₅₀ = 68,61 µg/mL) tetapi lebih lemah dibandingkan dengan pembandingnya yaitu vitamin A (IC₅₀ = 0,05 µg/mL).

SARAN

Dari hasil pembahasan penelitian ini, peneliti menyarankan untuk :

1. Dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui komponen aktif dalam bentuk *single compound* dengan menggunakan metode instrumental.
2. Perlu dilakukan pembuatan kurva baku untuk penetapan kadar fenol total dengan rentang atau interval konsentrasi yang lebih lebar.
3. Perlu dilakukan ada penelitian lebih lanjut dengan uji toksisitas pada herbal uji untuk menilai keamanan fraksi n-butanol daun *U. lobata*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada IOM (Ikatan Orang tua Mahasiswa) dan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Sairaoka, I. P. Penyakit Degeneratif Mengenal, Mencegah dan Mengurangi Faktor Risiko 9 Penyakit Degeneratif. Yogyakarta: Medical Book; 2012.
- [2] Sayuti, K., Yenrina, R. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Padang: Andalas University Press; 2015.
- [3] Murray R. K., Granner D.K., Rodwell V.W. *Biokimia Harper*, 27th ed. Andri Hartono, translator. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 2009.
- [4] Parwata, I. M. O. A. Bahan Ajar Antioksidan. Bukit Jimbaran: Kimia Terapan Program Pascasarjana Universitas Udayana; 2016.
- [5] Dhurhanian, E., Novianto, A. Uji Kandungan Fenolik Total dan Pengaruhnya terhadap Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Bentuk Sediaan Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*). Surakarta: Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia; 2018 5 (02).
- [6] Wulandari, R., Utami, P. I., Hartanti, D. Penapisan Fitokimia dan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol herba pulutan (*Urena lobata* Linn.). Pharmacy. 2009 April; 06 (01):1-9.
- [7] Babu, S. S. Madhuri, D. B. Ali, S. L. A Pharmacological Review of Urena Lobata Plant. Asian J Pharm Clin Res. 2016; 9(2): 20-2.
- [8] Islam, M. T., Uddin, M. A. *A Revision on Urena lobata L.* Teresina: International Journal of Medicine; 2017 5 (1) 126-131.
- [9] Hanin, N., Pratiwi, R. 2017. Kandungan Fenolik, Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Paku Laut (*Acrostichum aureum* L.) Fertil dan Steril. Yogyakarta: J. Trop. Biodiv. Biotech. 2017; 2: 51-56
- [10] Tursiman, Ardiningsih, P., Nofiani, R. Total Fenol Fraksi Etil Asetat Dari Buah Asam Kandis (*Garcinia dioica* Blume). JKK. 2012; volume 1 (1): 45-48.
- [11] Akhsanita, M. Uji Sitotoksik Ekstrak,

- Fraksi, Dan Sub-Fraksi Daun Jati (*Tectona grandis* Linn. f.) dengan Metoda Brine Shrimp Lethality Bioassay. *Skripsi*. Padang: Fakultas Farmasi Universitas Andalas Padang; 2012.
- [12] Ikalinus, R., Widyastuti, S. K., Setiasih, N. L. K. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*). Bali: Indonesia Medicus Veterinus 2015 4(1) : 71-79.
- [13] Folin, O.; Ciocalteu, V. Tyrosine and tryptophan determinations proteins J. Biol. Chem. 1927; 73, 627.
- [14] Sedjati, S., Supriyanti, E., Ridlo, A., Soenardjo, N., Santi, V. Y. Kandungan Pigmen, Total Fenolik dan Aktivitas Antioksidan *Sargassum* sp. Jurnal Kelautan Tropis. 2018; 21(2): 137-144.
- [15] Sugiat, D., Hanani, E., Mun'im, A. Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Fenol Total Ekstrak Metanol Dedak Bebeapa Varietas padi (*Oryza sativa* L.). Majalah Ilmu Kefarmasian. 01 April 2010; volume 07(1): 24-33.
- [16] Molyneux, P. Original Article: The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin J. Sci. Technol., 2004, 26(2): 211-219.
- [17] Tambun, R. Limbang, H. P. Pinem, C. Manurung, E. *Pengaruh Ukuran Partikel, Waktu Dan Suhu Pada Ekstraksi Fenol Dari Lengkuas Merah*. Medan: Jurnal Teknik Kimia USU. 2016; 5(4)
- [18] Harborne, J. B. Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, tranlator. Bandung: ITB Press. 1987.
- [19] Apak, R., K. Guclu, B. Demirata, M. Ozyurek, S. E. Celik, B. Bektasoglu, K. I. Berker and D. Ozyurt. Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assay Applied to Phenolic Compounds with The CUPPRAC Assay. Molecules. 2007; 12:1496-1547.
- [20] Lenny, S. 2006. Senyawa Flavonoida, Fenil Propanoida dan Alkaloida. Karya Ilmiah. MIPA Universitas Sumatera Utara
- [21] Pambudi, A., Syaefudin. Noriko, N., Swandari, R., Azura, P. R. Identifikasi bioaktif golongan flavonoid tanaman anting-anting (*Acalypha indica*). Jurnal al-azhar Indonesia seri sains dan teknologi. Bogor: 2014; 2 (3)
- [22] Amic, D., D. Beslo, N. Trinajstić, & Davidović. Structure-Radical Scavenging Activity Relationship of Flavonoids. *Croatia Chemica Acta*. 2003; 76: 55-61.
- [23] Flora, Swaran J.S. Structural, chemical and biological aspects of antioxidants for strategies against metal and metalloid exposure. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Gwalior: 2009; 2 (4) : 191-206.
- [24] Annisa, S., Musfiroh, I., Indriati, L. Perbandingan Metode Analisis Instrumen HPLC dan UHPLC: Article Review. *Farmaka*. 2020; 17 (3): 189-97
- [25] Rahmawati, A. Kandungan Fenol Total Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*). *Skripsi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2009.
- [26] Hardiana, R. Rudiansyah. Zaharah, T. A. Aktivitas Antioksidan Senyawa Golongan Fenol Dari Beberapa Jenis Tumbuhan Famili Malvaceae. *JKK*. 2012; 1 (1): 8-13
- [27] Marjoni, M., Afrinaldi. Novita, A. D. Kandungan Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.). *Jurnal Kedokteran Yarsi*. 2015; 23 (3) : 187-196
- [28] Tsuchiya, M. Scita, G. Freisleben, H. J. Kagan, V. E. Packer, L. 1992. Antioxidant Radical-Scavenging Activity of Carotenoids and Retinoids Compared to α -Tocopherol. *Methods in Enzymology*. Academic Press, Inc. 1992; Vol. 213
- [29] Rahmawati. Muflihunna, A., Sarif, L. M. Analisis Aktivitas Antioksidan Produk Sirup Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). Makassar: Jurnal Fitofarmaka Indonesia. 2015; 2(2).
- [30] Suswati., Habazar, T., Husin, E. F., Nasir, N. 2011. Senyawa Fenolik Akar Pisang CV. Kepok (*Musa acuminata*) yang Diinduksi dengan Fungi Mikoriza Arbuskular Indigenus PU10-Glomus sp 1 terhadap Penyakit Darah Bakteri. Padang; Jurnal Natur Inonesia. 13 (3): 207-213
- [31] Maharani, E. T. W. Mukaromah, A. H. Farabi, M. F. 2014. Uji Fitokimia Ekstrak Daun Sukun Kering (*Artocarpus altilis*). Semarang; Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat UMS.
- [32] Matsunaga, K., Yamabe, S., Mori, T. 1997. Photodegradation of Polychlorobiphenyls

- by Titanium Dioxide / Ferric Ion / Hydrogen Peroxide / UV Light System. *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health.* **43** (3): 174-181
- [33] Wikanta, T., Gusmita, D., Rahayu, L., Marraskuranto, E. 2012. Kajian Awal Bioaktivitas Ekstrak Etanol Dan Fraksinya Dari Spons *Callyspongia sp.* terhadap Sel Lestari Tumor HeLa. Jakarta Pusat; JPB Perikanan. **7** (1): 1-10
- [34] Adnan, M. 1997. Teknik Kromatografi Untuk Analisis Bahan Pangan Edisi 1. Penerbit Andi. Yogyakarta;
- [35] Gunawan, D. H. 2018. Penurunan Senyawa Saponin Pada Gel Lidah Buaya Dengan Perebusan Dan Pengukusan. Pontianak; Jurnal Teknologi Pangan. **9** (1): 41-44
- [36] Novitasari, A. K., Putri, D. Z. Isolasi Dan Identifikasi Saponin Pada Ekstrak Daun Mahkota Dewa Dengan Ekstraksi Maserasi. *Jurnal Sains*, **6** (12) 2016.
- [37] Purnomo, Y., Soetmadji, D. W., Sumitro, S. B., Widodo, M. A. 2015. Anti-diabetic potential of *Urena lobata* leaf extract through inhibition of dipeptidyl peptidase IV activity. Malang; Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, **5**(8): 645-649
- [38] Redha, A. 2010. Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya Dalam Sistem Biologis. Pontianak: *Jurnal Belian*. **9** (2): 196-202.
- [39] Purnomo, Y. 2021. "Analisis Kadar Fenol Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Pulutan (*Urena lobata*)". [unpublished]
- [40] Materska, M. 2008. Quercetin And Its Derivatives: Chemical Structure And Bioactivity – A Review. Lublin; polish journal of food and nutrition sciences. **58** (4): 407-413
- [41] Rahmadina. 2021. "Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan fraksi n-Hexane Daun Pulutan (*Urena lobata*)". [unpublished]
- [42] Hidayah, N., Purwanto, D. A., Isnaeni. 2014. Penapisan Aktivitas Antioksidan Kombinasi Yogurt Dan Jus Tomat Dibandingkan Vitamin C. Surabaya: *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*. **4** (1)
- [43] Tomayahu R, Bialang N. Salimi YK. 2013. Identifikasi senyawa aktif dan uji toksisitas ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) dengan metode BSLT. *Jurnal Fakultas MIPA. Universitas Negeri Gorontalo*.